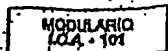
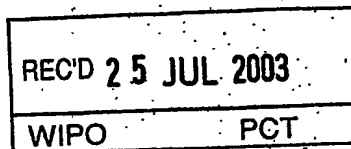


773 PCT



107509062
PCT/EP 03/02749
Rec'd PCT/PTO 24 SEP 2004
Mod. C.E. 1-4-7

Ministero delle Attività Produttive
Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi
Ufficio G2



Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: **Invenzione Industriale**

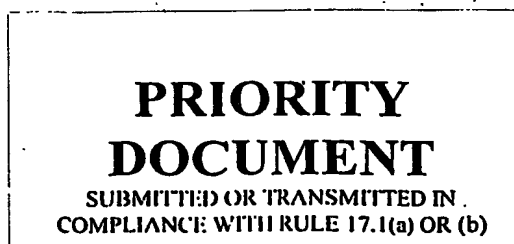
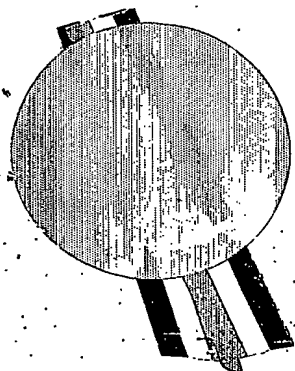
N. **MI2002 A 000632**



*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

Roma, li

28 APR. 2003



IL DIRIGENTE
Giampietro Carlotti
Giuseppe Berlotto

Best Available Copy

AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO



A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione INDENA S.p.A.
Residenza Milano codice 11101

2) Denominazione _____
Residenza _____ codice _____

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Bianchetti Giuseppe ed altri cod. fiscale _____
denominazione studio di appartenenza Bianchetti Bracco Minoja s.r.l.
via Rossini n. 8 città Milano cap 20122 (prov) MI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci) _____ gruppo/sottogruppo _____/_____

"Processo per la preparazione di estratti di pomodoro ad elevato contenuto di licopene"

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA _____/_____/____ N° PROTOCOLLO _____

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) Giori Andrea 3) _____
2) _____ 4) _____

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

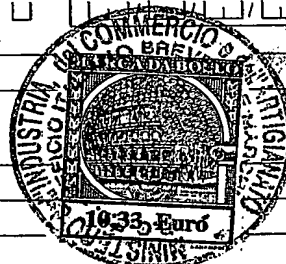
SCIOGLIMENTO RISERVE

Data N° Protocollo

1) _____/_____/____/____/____
2) _____/_____/____/____/____

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURA DI ORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI



DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) 2 PROV n. pag. 10 riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)....
Doc. 2) 0 PROV n. tav. 1 disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
Doc. 3) 0 RIS lettera d'incarico, procura e trattamento procura generale
Doc. 4) 0 RIS designazione inventore
Doc. 5) 0 RIS documenti di priorità con traduzione in italiano
Doc. 6) 0 RIS autorizzazione o atto di cessione
Doc. 7) 0 nominativo completo del richiedente

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data N° Protocollo

_____/_____/____/____/____
_____/_____/____/____/____
_____/_____/____/____/____
_____/_____/____/____/____
confronta singole priorità
_____/_____/____/____/____

8) attestati di versamento, totale Euro

Centosessantadue/69#

obbligatorio

COMPILATO IL 27/03/2002

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

Bianchetti Giuseppe

CONTINUA SI/NO NO

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SI

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI MILANO

MILANO

codice 1105

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2002A 000632

Reg. A.

L'anno DUEMILADUE

IL SEPTANTESETTE

del mese di MARZO

Il(I) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda di brevetto per invenzione industriale, depositata in data 27/03/2002, con 100 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraripartito.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL RAPPRESENTANTE

PUR INFORMATO DEL CONTENUTO

DELLA CIRCOLARE N. 423 DEL 2001

EFFETTUA IL DEPOSITO CON

RISERVA DI LETTERA DI INCARICO

IL DEPOSITANTE

L'UFFICIALE ROGANTE

A. D. M. S. S. S. S. S.



RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA MI2002A 000632 REG. A

DATA DI DEPOSITO 27/09/2002

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

D. TITOLO

"Processo per la preparazione di estratti di pomodoro ad elevato contenuto
di licopene"

L. RIASSUNTO

Si descrive un processo per l'estrazione di licopene da pomodori interi,
concentrati a caldo ed estratti con acetato d'etile saturo d'acqua.

M. DISEGNO

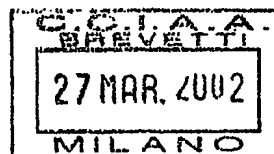


6736M Descrizione del brevetto per invenzione industriale avente per titolo:

MV/mc "PROCESSO PER LA PREPARAZIONE DI ESTRATTI DI
POMODORO AD ELEVATO CONTENUTO DI LICOPENE"

a nome : INDENA S.p.A.

con sede in : Milano



* * *

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce ad un processo per la preparazione di estratti di pomodoro ad elevato contenuto di licopene.

INTRODUZIONE

Il licopene è un pigmento naturale, particolarmente abbondante nel pomodoro e nell'anguria e di colore rosso intenso. Per la sua caratteristica, che si associa a sicurezza ed anche ad effetti benefici, viene ampiamente utilizzato come colorante nell'industria alimentare, generalmente sotto forma di oleoresina, ossia una sospensione in lipidi naturali. In questa forma, probabilmente per la presenza dei lipidi e degli antiossidanti naturali, viene preservato dall'ossidazione (il licopene cristallino è altamente instabile) e dalla degradazione da parte dei batteri. Inoltre, per le sue proprietà antiossidanti e chemioprotettive, viene utilizzato come integratore alimentare.

Anche se il licopene può essere preparato per sintesi [Karrer *et al.*, *Helv. Chim. Acta* 33, 1349 (1950); Isler *et al.*, *ibid.* 39, 463 (1956)], esso viene solitamente ottenuto per estrazione da pomodori (*Lycopersicum esculentum*). Dal momento che il licopene possiede un colore rosso intenso solamente quando è in forma cristallina, il processo estrattivo deve consentire di pervenire al prodotto in questa forma.

I metodi finora proposti (WO 95/16363 e WO 97/48287) prevedono la separazione del siero dalla polpa e l'estrazione di quest'ultima con solventi. In WO 97/48287 i pomodori, prima della separazione polpa-siero, che deve essere eseguita in condizioni controllate, vengono sottoposti a trattamento termico; anche l'estrazione viene eseguita a caldo.

Nonostante questi procedimenti siano applicabili su qualsiasi tipo di pomodoro, è preferibile che il contenuto iniziale di licopene sia superiore a 50 ppm.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

La presente invenzione ha per oggetto un procedimento per la preparazione di estratti integrali di pomodoro con contenuto di licopene dal 5% al 20% e con contenuto di zuccheri riducenti espressi come glucosio inferiore all'1% comprendente i seguenti passaggi:

a) pretrattamento di pomodori freschi comprendente lavaggio, sminuzzamento o macinazione;

b) concentrazione a caldo del pomodoro sminuzzato o macinato ottenuto come in a);

c) estrazione del concentrato ottenuto come in b) con acetato d'etile saturo d'acqua;

d) controlavaggio con acqua dell'estratto ottenuto come in c);

e) concentrazione dell'estratto a secchezza a pressione ridotta.

Il pretrattamento viene eseguito secondo tecniche convenzionali e saranno adatti allo scopo tutti i metodi che consentono l'ottenimento di un pomodoro sminuzzato o macinato omogeneo.

La concentrazione (passaggio b) viene effettuata per distillazione a pressione ridotta, a temperatura compresa fra 40 e 70°C, preferibilmente a

50°C, in modo tale da ridurre il peso del pomodoro sminuzzato o macinato al 20-30% rispetto al valore iniziale.

L'estrazione del concentrato (passaggio c) viene eseguita con un volume di acetato d'etile saturo d'acqua compreso fra 1,0 e 2,5 volte il peso del concentrato, preferibilmente due volte, e l'estrazione viene ripetuta fino ad ottenere un residuo privo di licopene. Secondo una realizzazione preferita dell'invenzione, l'estrazione viene ripetuta quattro volte. L'estrazione viene eseguita a temperatura ambiente e al riparo dalla luce, mantenendo la miscela concentrato-solvente sotto agitazione per almeno un'ora.

Ogni estratto viene lavato con acqua (passaggio d), preferibilmente in volume pari alla metà di quello del solvente impiegato per ogni singola estrazione, dopodichè gli estratti vengono riuniti, filtrati ed evaporati a secchezza a pressione ridotta (passaggio e). Il lavaggio con acqua è essenziale ai fini della riuscita del processo; si è osservato infatti che, omettendo questo passaggio, come illustrato in dettaglio nel successivo esempio 3, si ottiene una quantità maggiore di estratto integrale, ma con contenuto percentuale in licopene inferiore di circa un terzo (4% contro il 6% circa, per pomodori contenenti 50 ppm di licopene).

Il processo dell'invenzione consente inoltre di ottenere licopene cristallino con titolo superiore al 50%, dal quale è possibile preparare oleoresine. A questo scopo, i passaggi a)-d) vengono eseguiti come precedentemente descritto, mentre al passaggio e) si concentra l'estratto ad un volume finale compreso fra lo 0,10 e lo 0,28% rispetto al volume iniziale. L'estratto concentrato viene quindi lasciato a riposo per alcune ore ed il precipitato cristallino di licopene viene separato per filtrazione ed essiccato (passaggio f). L'oleoresina viene ottenuta per aggiunta di olio di semi ai cristalli di licopene, preferibilmente olio di semi di pomodoro o

olio di semi di soia (passaggio g).

Il processo secondo la presente invenzione è vantaggioso in quanto fornisce buone rese anche quando effettuato su pomodori a basso contenuto iniziale di licopene e permette di ottenere un estratto integrale con titolo elevato, compreso tra il 5% ed il 20%, circa due volte superiore rispetto al metodo proposto in WO 97/48287, come illustrato nell'esempio di confronto. Il processo è inoltre vantaggioso in quanto il contenuto di zuccheri riducenti nell'estratto è sempre inferiore all'1% e solitamente è inferiore allo 0,5%.

L'invenzione viene ora illustrata più in dettaglio mediante alcuni

ESEMPI

Esempio 1

Preparazione dell'estratto secondo l'invenzione

52 kg di pomodori freschi con titolo di licopene di 50 ppm vengono sminuzzati e omogeneizzati in frullatore.

Si elimina parte dell'acqua per distillazione a pressione ridotta (20 mBar) a 60°C. Si ottengono 34 L d'acqua distillata, che viene eliminata, e 17,8 Kg di pomodoro concentrato.

Il concentrato viene coperto con 36 L di acetato d'etile saturo d'acqua e la miscela viene posta sotto agitazione per 2 ore a temperatura ambiente e al riparo dalla luce.

Dopo 2 ore l'estratto viene aspirato e la droga viene di nuovo coperta con 36 L di acetato d'etile saturo d'acqua. La miscela viene posta sotto agitazione per 2 ore a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. L'estratto viene filtrato e lavato in imbuto separatore con 18 L d'acqua. L'acqua di lavaggio viene eliminata e l'estratto viene tenuto da parte.

Si ripetono ancora due estrazioni e due lavaggi come precedentemente



descritto (si utilizzano in tutto 144 L di solvente). Gli estratti dopo filtrazione vengono riuniti e concentrati a secchezza a pressione ridotta; l'estratto integrale di pomodoro così ottenuto (38,9 g) possiede un titolo HPLC di licopene del 6,05% un contenuto in zuccheri riducenti (espressi come glucosio) dello 0,28%, un contenuto in fosfolipidi del 12,97% ed un contenuto in mono-digliceridi del 24,02%.

Esempio 2

50 kg di pomodori freschi con titolo di licopene di 150 ppm vengono sminuzzati e omogeneizzati in frullatore.

Si elimina parte dell'acqua per distillazione a pressione ridotta (20 mBar) a 60°C. Si ottengono 31 L d'acqua distillata, che viene eliminata, e 18,8 Kg di pomodoro concentrato.

Il concentrato viene coperto con 40 L di acetato d'etile saturo d'acqua e la miscela viene posta sotto agitazione per 2 ore a temperatura ambiente e al riparo dalla luce.

Dopo 2 ore l'estratto viene aspirato e la droga viene di nuovo coperta con 40 L di acetato d'etile saturo d'acqua. La miscela viene posta sotto agitazione per 2 ore a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. L'estratto viene filtrato e lavato in imbuto separatore con 20 L d'acqua. L'acqua di lavaggio viene eliminata e l'estratto viene tenuto da parte.

Si ripetono ancora due estrazioni e due lavaggi come precedentemente descritto (si utilizzano in tutto 160 L di solvente). Gli estratti dopo filtrazione vengono riuniti e concentrati a secchezza a pressione ridotta; l'estratto integrale di pomodoro così ottenuto (37,2 g) possiede un titolo HPLC di licopene del 17,8% un contenuto in zuccheri riducenti (espressi come glucosio) dello 0,31%.

Esempio 3

Preparazione dell'estratto senza controlavaggio con acqua

Si utilizzano pomodori appartenenti allo stesso lotto dell'esempio 1, con contenuto di licopene pari a 50 ppm.

4,5 kg di pomodori vengono sminuzzati ed omogeneizzati in frullatore, quindi, per distillazione a pressione ridotta (20 mBar) e a 60°C, si eliminano 3,3 L di acqua.

Il concentrato così ottenuto (1,17 kg) viene estratto per 4 volte con 2,3 L di acetato d'etile (si utilizzano in tutto 9,2 L di solvente), agitando ogni volta per 2 ore a temperatura ambiente e al riparo dalla luce.

Gli estratti vengono riuniti, filtrati e concentrati a secchezza a pressione ridotta. L'estratto integrale così ottenuto (5,09 g) possiede un titolo HPLC di licopene del 4% un contenuto di zuccheri riducenti (espressi come glucosio) del 4,46%, un contenuto in fosfolipidi del 16,51% ed un contenuto in mono-digliceridi del 14,47%.

Esempio 4

Preparazione dell'oleoresina in olio di pomodoro

Si segue la procedura dell'esempio 1, concentrando però gli estratti riuniti fino ad un volume finale di 200 ml. L'estratto concentrato viene lasciato a riposo per una notte, al riparo dalla luce, ottenendo un precipitato aghiforme di colore rosso scuro. Si filtra sotto vuoto, evitando il contatto con l'aria, si lava con acetato d'etile e si secca il prodotto sotto vuoto a 50°C. Si ottengono 4,23 g di licopene cristallino con titolo del 51%.

Al licopene cristallino si aggiungono 6,75 g di olio di semi di pomodoro (ottenuto per estrazione esanica) e la miscela viene agitata vigorosamente. Si ottengono 10,7 g di un prodotto fluido, omogeneo, di colore rosso intenso, con un titolo in licopene del 19,8%.

Esempio 5

Preparazione dell'oleoresina in olio di soia

Si segue la procedura dell'esempio 1, concentrando però gli estratti riuniti fino ad un volume finale di 200 ml. L'estratto concentrato viene lasciato a riposo per una notte, al riparo dalla luce, ottenendo un precipitato aghiforme di colore rosso scuro. Si filtra sotto vuoto, evitando il contatto con l'aria, si lava con acetato d'etile e si secca il prodotto sotto vuoto a 50°C. Si ottengono 4,23 g di licopene cristallino con titolo del 51%.

Al licopene cristallino si aggiungono 6,75 g di olio di semi di soia (ottenuto per estrazione esanica) e la miscela viene agitata vigorosamente. Si ottengono 10,7 g di un prodotto fluido, omogeneo, di colore rosso intenso, con un titolo in licopene del 19,8%.

Esempio comparativo

Estrazione secondo il metodo descritto in WO 95/16363

Si utilizzano pomodori appartenenti allo stesso lotto dell'esempio 1, con contenuto di licopene pari a 50 ppm.

5,14 kg di pomodori vengono sminuzzati ed omogeneizzati in frullatore, quindi vengono centrifugati a 3000g per 15', in modo da separare il siero dalla frazione insolubile (1,315 kg).

La frazione insolubile viene estratta per 4 volte con 2,65 L di acetato d'etile (10,6 L di solvente in tutto), lasciando ogni volta a contatto per 2 ore, sotto agitazione, alla temperatura di 60°C e al riparo dalla luce.

Gli estratti vengono riuniti e concentrati a secchezza a pressione ridotta. L'estratto integrale di pomodoro così ottenuto (6,07 g) possiede un titolo HPLC di licopene del 3,5%, contenuto di zuccheri riducenti (espressi come glucosio) dell'8,74%, contenuto di fosfolipidi del 35,57% e contenuto di mono-digliceridi del 12,44%.

RIVENDICAZIONI

1) Processo per la preparazione di estratti integrali di pomodoro con contenuto di licopene dal 5% al 20% e con contenuto di zuccheri riducenti espressi come glucosio inferiore all'1 % comprendente i seguenti passaggi:

- a) sminuzzamento o macinazione ed omogeneizzazione di pomodori freschi; pretrattamento di pomodori freschi comprendente lavaggio, sminuzzamento o macinazione ed omogeneizzazione;
- b) concentrazione a caldo del pomodoro sminuzzato o macinato ottenuto come in a);
- c) estrazione del concentrato ottenuto come in b) con acetato saturo d'acqua;
- d) controlavaggio con acqua dell'estratto ottenuto come in c);
- e) concentrazione dell'estratto a secchezza a pressione ridotta.



2) Processo secondo la rivendicazione 1) in cui la concentrazione dell'estratto secondo il passaggio e) viene condotta sino ad un volume finale compreso fra lo 0,10 e lo 0,28% rispetto al volume iniziale e comprendente inoltre i seguenti passaggi:

- f) filtrazione ed essiccamento del licopene precipitato ottenuto lasciando a riposo il concentrato;
- g) aggiunta di olio di semi al licopene ottenuto come in f).

3) Processo secondo la rivendicazione 2) in cui l'olio di semi è olio di semi di pomodoro.

4) Processo secondo la rivendicazione 2) in cui l'olio di semi è olio di semi di soia.

5) Estratti integrali di pomodoro con contenuto di licopene dal 5% al 20% e

con contenuto di zuccheri riducenti espressi come glucosio inferiore all'1% ottenibili con il processo della rivendicazione 1).

- 6) Licopene cristallino con titolo superiore al 50% ottenibile secondo il processo della rivendicazione 2-f).
- 7) Oleoresine contenenti licopene della rivendicazione 6) ottenibili con il processo di una qualsiasi delle rivendicazioni 2)-4).

Milano, 27 marzo 2002

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

G. Bianchetti

